

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI
MINYAK ATSIRI KULIT BATANG KAYU MANIS
(*Cinnamomum burmani* Blume) TERHADAP *Staphylococcus
aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa* MULTIRESISTEN
ANTIBIOTIK**

SKRIPSI



Oleh:

YULI WIYATNO

K 100 060 124

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA**

2010

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Infeksi merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia. Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur, riketsia, dan protozoa. Organisme-organisme tersebut dapat menyerang seluruh tubuh manusia atau sebagian dari padanya (Gibson, 1996).

Infeksi juga bisa disebabkan oleh munculnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Bagi negara-negara berkembang, timbulnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik pada penyakit infeksi merupakan masalah penting. Kekebalan bakteri terhadap antibiotik menyebabkan angka kematian semakin meningkat. Sedangkan penurunan infeksi oleh bakteri-bakteri patogen yang dapat menyebabkan kematian sulit dicapai, selain itu cara pengobatan yang menggunakan kombinasi berbagai antibiotik juga dapat menimbulkan masalah resistensi (Jawetz *et al.*, 2001).

Berkembangnya resistensi bakteri terhadap obat–obat hanyalah salah satu contoh proses alamiah yang dilakukan oleh organisme-organisme untuk mengembangkan toleransi terhadap keadaan lingkungan yang baru. Resistensi bakteri terhadap obat pada suatu mikroorganisme dapat disebabkan oleh suatu faktor yang memang sudah ada pada mikroorganisme sebelumnya atau mungkin

juga faktor itu diperoleh kemudian. Resistensi antibiotik merupakan masalah besar bagi orang-orang yang bekerja di klinik dan kini telah dilakukan banyak usaha untuk mencegah terjadinya resistensi antibiotik (Pelczar dan Chan, 1988).

Staphylococcus aureus merupakan penyebab penyakit infeksi. Dalam keadaan normal *Staphylococcus aureus* terdapat di saluran pernafasan atas, kulit, saluran cerna, dan vagina. *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan penyakit pada hampir semua organ dan jaringan, yang paling rentan terhadap infeksi adalah kulit. Bakteri ini mudah tumbuh pada kulit yang mengalami radang, kulit yang mengalami luka mengarah pada infeksi dan proses-proses bernanah lainnya (Shulman dkk., 1994).

Pseudomonas aeruginosa bersifat invasif dan toksigenik, mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh, dan merupakan patogen nosokomial yang penting. *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan infeksi pada luka jika masuk melalui fungsi lumbal, dan infeksi saluran kencing jika masuk kateter (Jawetz *et al.*, 2001).

Akhir-akhir ini masyarakat mempunyai kecenderungan untuk menggunakan obat tradisional dalam menangani penyakitnya. Karena bahan-bahannya mudah didapat, efek samping penggunaannya lebih kecil, dan harganya relatif lebih murah dibanding dengan obat sintetis (Hutapea, 1991).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmani* Blume). *Cinnamomum burmani* Blume mempunyai kandungan minyak atsiri yang sama dengan *Cinnamomum zeylanicum*. Kandungan terbanyak yang terkandung dalam minyak atsiri kayu

manis adalah sinamaldehyd 60-70%, *p-cimene* 0,6-1,2%, *α -pinene* 0,2-0,6%, eugenol 0,8%, sinamil asetat 5%, kariofilen 1,4-3,3%, benzil benzoate 0,7-1,0% (Balchin, 2006). Penelitian yang dilakukan Aneja (2009) menunjukkan bahwa ekstrak aseton kulit kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) memiliki aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 16 mm (MIC 25 mg/ml). Khan (2009) melaporkan ekstrak etanol yang diperoleh dari maserasi kulit kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) memiliki aktivitas antibakteri dengan zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC-29213 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-13311 multiresisten sebesar 26-35 mm dengan konsentrasi 390 μ g/ml. *Cinnamomum burmani* Blume mengandung minyak atsiri dengan komponen utama sinamaldehyd memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan KHM sebesar 3,3% v/v (Sukandar, 1999).

Berdasarkan penelitian tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk meneliti aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit kayu manis terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah minyak atsiri kulit batang *Cinnamomum burmani* Blume mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik ?

2. Senyawa apa yang terkandung dalam minyak atsiri kulit batang *Cinnamomum burmani* Blume yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Meneliti aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit batang *Cinnamomum burmani* Blume terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik beserta Kadar Bunuh Minimal (KBM) nya.
2. Meneliti senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri kulit batang *Cinnamomum burmani* Blume yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik.

D. Tinjauan Pustaka

1. Kayu Manis (*Cinnamomum burmani* Blume)

- a. Klasifikasi dari tanaman ini adalah

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Ranales

Suku : Lauraceae

Marga : *Cinnamomum*

Jenis : *Cinnamomum burmani* Blume (Anonim,

2000)

- b. Kandungan Kimia

Cinnamomum burmani Blume mengandung 0,5-1,5% minyak atsiri (minimum 1,0% b/v), termasuk 60-70% sinamaldehyd, tidak kurang 10% eugenol. Kulit mengandung tannin, musin, pati, dan 2,5-6,0% kalsium oksalat (Stahl, 1985). Kulit batang dan daun *Cinnamomum burmani* Blume mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan tannin, daunnya mengandung alkaloida dan polifenol (Anonim, 2000). Minyak atsiri kayu manis mengandung sinamaldehyd 60-70%, *p*-cimene 0,6-1,2%, *α* -pinene 0,2-0,6%, eugenol 0,8%, sinamil asetat 5%, kariofilen 1,4-3,3%, benzil benzoate 0,7-1,0% (Balchin, 2006)

2. Minyak Atsiri

Minyak atsiri terdiri dari campuran zat yang mudah menguap dengan komposisi dan titik didih yang berbeda-beda. Setiap substansi yang dapat menguap memiliki titik didih dan tekanan uap tertentu yang dipengaruhi oleh suhu, pada umumnya tekanan uap ini sangat rendah untuk persenyawaan yang memiliki titik didih sangat tinggi. Intensitas suatu bau harum yang dihasilkan merupakan manifestasi dari sifat mudah menguap persenyawaan yang menghasilkan bau harum tersebut. Minyak atsiri yang mudah menguap terdapat di dalam kelenjar khusus di dalam kantong minyak atau di dalam ruang antar sel dalam jaringan tanaman. Minyak atsiri tersebut harus dibebaskan sebelum disuling yaitu dengan merajang atau memotong jaringan tanaman dan membuka kelenjar minyak sebanyak mungkin, sehingga minyak dapat dengan mudah diuapkan (Guenther, 1987).

Minyak atsiri yang bagian utamanya terpenoid terdapat pada fraksi atsiri yang tersuling uap. Zat inilah penyebab harum, wangi, dan bau yang khas pada

banyak tumbuhan. Secara kimia, terpena minyak atsiri dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu monoterpen dan seskuiterpen, berupa isoprenoid C_{10} dan C_{15} yang jangka titik didihnya berbeda, titik didih monoterpen $140-180^{\circ}\text{C}$, titik didih seskuiterpen 200°C (Harborne, 1987).

3. Isolasi Minyak Atsiri

Di antara metode-metode isolasi yang paling lazim dilakukan adalah metode destilasi, meliputi destilasi air, destilasi air dan uap air, dan destilasi uap air. Metode destilasi air dan uap air digunakan untuk bahan-bahan kering maupun bahan segar dan terutama digunakan untuk minyak-minyak yang kebanyakan dapat rusak akibat panas kering. Bahan diletakkan di rak atau saringan berlubang dan air diisikan tidak jauh berada di bawah bahan yang akan disuling. Pemanasan dilakukan dengan uap jenuh basah dan bertekanan rendah. Ciri khas dari metode ini adalah uap selalu dalam keadaan basah dan bahan yang akan disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas (Ketaren, 1985).

Keuntungan dari metode ini adalah bahan yang disuling tidak menjadi gosong karena suhu ketel tidak akan melebihi suhu uap jenuh pada tekanan 1 atm, bahan lebih sedikit dan lebih banyak menghasilkan minyak atsiri walaupun dengan kecepatan penguapan yang lebih lama. Kerugiannya adalah jumlah uap yang dibutuhkan cukup besar dan waktu penyulingan lama, selain itu akan mengembun dalam jaringan tanaman sehingga bahan tanaman bertambah basah dan mengalami resinifikasi (Guenther, 1987).

4. *Staphylococcus aureus*

Sistematika dari bakteri ini adalah :

Divisi	: Protophyta	
Kelas	: Schizomycetes	
Bangsa	: Eubacteriales	
Suku	: Micrococcaceae	
Marga	: <i>Staphylococcus</i>	
Jenis	: <i>Staphylococcus aureus</i>	(Salle, 1961)

S. aureus membuat 3 macam metabolit, yaitu metabolit yang bersifat nontoksin, eksotoksin, dan enterotoksin yang termasuk metabolit nontoksin ialah antigen permukaan, koagulase, hialuronidase, fibrinolisin, gelatinase, protease, lipase, tributirinase, fosfatase, dan katalase. Metabolit eksotoksin terdiri dari alfa hemolisin, beta hemolisin, delta hemolisin, leukosidin, sitotoksin dan toksin eksofoliatif. Sedangkan metabolit enterotoksin dibuat jika bakteri ditanam dalam perbenihan semisolid dengan konsentrasi CO₂ 30%. Toksin ini terdiri dari protein yang bersifat nonhemolitik, nonparalitik, termostabil, dalam air mendidih tahan selama 30 menit dan tahan terhadap pepsin dan tripsin menyebabkan keracunan makanan, antara 2–6 jam dengan gejala yang timbul secara mendadak, yaitu mual, muntah, dan diare (Warsa, 1994).

Bakteremia, endokarditis, pneumonia, dan infeksi hebat lain yang disebabkan oleh *S. aureus* memerlukan terapi intravena yang lama dengan penisilin yang resisten terhadap β -laktamase. Jika infeksi disebabkan oleh *S. aureus* yang tidak menghasilkan β -laktamase, penisilin G merupakan obat pilihan, tetapi hanya sedikit strain *S. aureus* yang peka terhadap penisilin G. Pada infeksi klinis, strain *S. aureus* yang resisten terhadap penisilin G selalu menghasilkan

penisilinase. Bakteri ini biasanya peka terhadap penisilin yang resisten terhadap β -laktamase, sefalosporin, atau vankomisin (Jawetz *et al.*, 2001).

5. *Pseudomonas aeruginosa*

Sistematika dari bakteri ini adalah :

Divisi	: Protophyta	
Kelas	: Schizomycetes	
Bangsa	: Pseudomonadales	
Suku	: Pseudomonadaceae	
Marga	: Pseudomonas	
Jenis	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(Salle, 1961)

Pseudomonas aeruginosa menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar, menghasilkan nanah warna hijau, meningitis jika masuk melalui fungsi lumbal, dan infeksi saluran kencing jika masuk melalui kelenjar dan ekstruna. Penyerapan pada saluran nafas, khususnya respirator yang tercemar, mengaktifkan pneumonia nekrotisan (*recrotizing pneumonia*). Bakteri sering ditemukan pada otitis eksternal ringan pada perenang. Hal ini dapat menyebabkan otitis ekstema berat pada pasien diabetes (Jawet *et al.*, 2001).

Infeksi *P. aeruginosa* yang penting dalam klinik tidak boleh diobati dengan terapi obat tunggal, karena keberhasilan terapi semacam ini rendah dan bakteri dapat dengan cepat menjadi resisten. Penisilin yang bekerja aktif terhadap *P. aeruginosa* digunakan dalam kombinasi dengan aminoglikosida, biasanya gentamisin, tobramisin, atau amikasin. Obat lain yang aktif terhadap *P. aeruginosa* antara lain aztreonam, imipenem, kuinolon baru, termasuk

siprofloksasin. Sefalosporin generasi baru, seftazidim, dan sefoperakson aktif melawan *P. aeruginosa*. Pola kepekaan *P. aeruginosa* bervariasi secara geografik dan tes kepekaan harus dilakukan sebagai pedoman untuk pemilihan terapi antimikroba (Jawet *et al.*, 2001).

6. Antibakteri

Antibakteri adalah suatu substansi kimia yang diperoleh dari, atau dibentuk oleh berbagai spesies mikroorganisme, yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Chatim dan Suharto, 1994). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisid bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM. Pemusnahan mikroba dengan antimikroba yang bersifat bakteristatik masih tergantung dari kesanggupan reaksi daya tahan tubuh hospes. Peran lamanya kontak antara mikroba dengan antimikroba dalam kadar efektif juga sangat menentukan untuk mendapatkan efek (Setiabudy dan Gan, 1995).

Mekanisme kerja obat antimikroba tidak sepenuhnya dimengerti. Namun mekanisme aksi ini dapat dikelompokkan dalam empat hal utama:

- a. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel.
- b. Penghambatan terhadap fungsi membran sel.
- c. Penghambatan terhadap sintesis protein.
- d. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat (Jawetz dkk., 2001).

7. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian terhadap aktivitas antimikroba dilakukan untuk mengetahui obat-obat yang paling poten untuk kuman penyebab penyakit terutama penyakit kronis.

Pengujian ini dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu :

a. Agar difusi

Media yang dipakai adalah Mueller Hinton. Metode difusi ini ada beberapa cara, yaitu:

1). Cara Kirby Bauer

Diambil beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar, disuspensikan ke dalam 0,5 ml *Brain Heart Infusion* (BHI) cair, diinkubasikan 5-8 jam pada 37°C. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10^8 CFU per ml. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Kemudian diletakkan kertas samir (*disk*) yang mengandung antibakteri di atasnya dan diinkubasi pada 37°C selama 9-24 jam, hasilnya dibaca :

- a). Zona radikal yaitu suatu daerah di sekitar *disk* yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal.

- b) Zona irradikal yaitu suatu daerah di sekitar *disk* yang menunjukkan pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri tetapi tidak dimatikan (Anonim, 1993).

2). Cara Sumuran

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasi 5-8 jam selama 37°C. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10⁸ CFU per ml. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Dibuat sumuran pada media agar dengan diameter tertentu, kemudian diteteskan larutan antibakteri ke dalam sumuran dan diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Hasilnya dibaca seperti pada cara Kirby Bauer (Anonim, 1993).

3). Cara Pour Plate

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasi 5-8 jam selama 37°C. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10⁸ CFU per ml. Suspensi bakteri diambil satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4 ml agar base 1,5 % yang mempunyai temperatur 50°C. Setelah suspensi kuman tersebut homogen kemudian dituang ke dalam media agar Mueller Hinton, ditunggu sebentar sampai agar tersebut membeku. *Disk* diletakkan di atas media dan diinkubasi 15-20 jam dengan temperatur 37°C. Hasil dibaca sesuai dengan standar masing-masing antibakteri (Anonim, 1993).

b. Dilusi Cair atau Dilusi Padat

Pada prinsipnya antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, lalu ditanami bakteri (Anonim, 1993).

8. Resistensi

Resistensi sel mikroba adalah suatu sifat tidak terganggunya sel mikroba oleh antimikroba (Setiabudy dan Gan, 1995). Resistensi mikrobial terhadap obat terjadi akibat perubahan genetik dan dilanjutkan serangkaian proses seleksi oleh obat antimikroba (Jawetz *et al.*, 2001). Faktor yang mempengaruhi sifat resistensi mikroba terhadap antimikroba terdapat pada elemen yang bersifat genetik. Berdasarkan lokasi elemen, resistensi dikenal menjadi 3 macam, yaitu:

- a). Resistensi kromosomal, terjadi akibat mutasi spontan dalam lokus yang mengontrol kepekaan obat antimikroba yang diberikan. Adanya antimikroba sebagai mekanisme selektif yakni membunuh bakteri yang peka dan membiarkan tumbuh bakteri yang resisten (Jawetz *et al.*, 2001).
- b). Resistensi ekstra-kromosomal, bakteri seringkali berisi elemen genetik yang disebut plasmid. Faktor R adalah kelompok plasmid yang membawa gen resistensi terhadap satu atau beberapa obat antimikroba dan logam berat. Gen plasmid untuk resistensi antimikroba mengontrol pembentukan enzim yang mampu merusak antimikroba (Jawetz *et al.*, 2001).
- c). Resistensi silang adalah keadaan resistensi terhadap antimikroba tertentu yang juga memperlihatkan sifat resistensi terhadap antimikroba yang lain.

Biasanya terjadi antara antimikroba yang memiliki struktur kimia hampir sama (derivat tetrasiklin) atau antara antimikroba dengan struktur kimia yang berbeda dengan mekanisme aksi yang hampir sama (Setiabudy dan Gan, 1995).

9. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan jenis kromatografi yang dapat digunakan untuk menganalisis senyawa secara kualitatif maupun kuantitatif (Sumarno, 2001). Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir (fase diam) ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita, setelah pelat/lapisan ditaruh dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak). Pemisahan terjadi setelah perambatan kapiler (pengembangan), selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan/dideteksi. Deteksi dilakukan dengan menggunakan sinar UV (Stahl, 1985).

Fase gerak atau pelarut pengembang merupakan medium angkut yang terdiri dari satu atau beberapa pelarut yang bergerak di dalam fase diam (suatu lapisan yang berpori) karena adanya gaya kapiler. Pelarut pengembang dapat dikelompokkan ke dalam deret eluotropik berdasarkan efek solusinya (Stahl, 1985). Pemilihan fase gerak baik tunggal maupun campuran tergantung solut yang dianalisis dan fase diam yang digunakan. Bila fase diam telah ditentukan maka memilih fase gerak dapat berpedoman pada kekuatan elusi fase gerak (Sumarno, 2001).

Hasil KLT dinilai dengan beberapa parameter antara lain :

- a. Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan

dengan R_f/hR_f .
$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak (cm)}}$$

(Gritter,
1991)

- b. Penilaian Visual.

Pada penilaian visual kromatogram, hal yang dapat diamati adalah :

- 1) Jarak pengembangan komponen larutan cuplikan dibandingkan dengan jarak pengembangan larutan pembanding.
- 2) Fluoresensi/pemadaman fluoresensi (warna).
- 3) Perbandingan dan luas bercak memberikan informasi angka banding kuantitatif (Stahl, 1985).

10. Uji Bioautografi

Uji bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil KLT (Kromatografi Lapis Tipis) yang memiliki aktivitas antibakteri, antifungi, dan antivirus sehingga mendekatkan metode separasi dengan uji biologis. Keuntungan metode ini adalah sifatnya yang efisien untuk mendeteksi adanya senyawa antimikroba karena letak bercak dapat ditentukan walaupun berada dalam campuran yang kompleks, sehingga memungkinkan untuk mengisolasi senyawa aktif tersebut. Kerugiannya adalah metode ini tidak dapat digunakan untuk menentukan KHM dan KBM (Pratiwi, 2008).

E. Keterangan Empiris

Dari penelitian ini diharapkan didapat suatu data ilmiah tentang aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmani* Blume) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik.